

# Análisis predictivo de la profundidad del tratamiento fotodinámico con nanopartículas portadoras de porfirinas

## Predictive analysis of photodynamic treatment depth with porphyrin carrier nanoparticles

Félix FANJUL-VÉLEZ, Irene SALAS-GARCÍA, José Luis ARCE-DIEGO

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas. Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros S/N, 39005 Santander, Cantabria, España.

Persona de contacto: José Luis Arce Diego ([arcedj@unican.es](mailto:arcedj@unican.es)).

### RESUMEN:

En este trabajo se estudia el efecto de las nanopartículas de oro sobre la distribución de la radiación óptica con fines dosimétricos, cuando actúan como portadoras de un fotosensibilizador de la familia de las porfirinas ampliamente empleado en Terapia Fotodinámica. Para ello se emplea un modelo predictivo que permite analizar los cambios inducidos por la administración de nanopartículas esféricas sobre la distribución de la radiación óptica en el tejido maligno. A partir de la distribución óptica se estima la profundidad del tratamiento fotodinámico en un carcinoma basocelular nodular considerando tanto el fotosensibilizador convencional como el entregado mediante nanopartículas. Los resultados muestran diferencias significativas que demuestran la gran utilidad del modelado predictivo para descartar el uso de ciertas nanopartículas como portadoras del fotosensibilizador, ya que a pesar de favorecer una mejor acumulación del agente fotoactivo, limitan a priori el efecto terapéutico sobre carcinomas de cierta profundidad.

**Palabras clave:** Nanopartículas, fotosensibilizador, porfirinas, carcinoma, Terapia Fotodinámica, propagación óptica.

### ABSTRACT:

The effect of gold nanoparticles to deliver a Porphyrin based photosensitizer widely used in Photodynamic Therapy on the depth of light penetration is studied by means of a predictive model with dosimetric purposes. The model employed allows to analyze the changes induced by the spherical nanoparticles administration in the optical distribution within the malignant tissue. The depth of photodynamic treatment is estimated in a nodular basal cell carcinoma taking into account both the conventional photosensitizer delivery and by means of nanoparticles. Significant differences are observed and demonstrate the great functionality of predictive modeling to rule out the use of certain nanoparticles to deliver the photosensitizer due to the limited therapeutic effect at certain depths within the carcinoma despite the photosensitizer delivery improvements.

**Key words:** Nanoparticles, photosensitizer, porphyrin, carcinoma, Photodynamic Therapy, optical propagation.

## 1.- Introducción

A pesar de las ventajas que presenta la Terapia Fotodinámica (TFD) para el tratamiento del cáncer de piel frente a otras técnicas tera-

péuticas, existen ciertas dificultades que limitan su aplicación para tratar ciertos tipos de patologías [1]. Entre dichas dificultades, se encuentra la posibilidad de tratar únicamente

lesiones cutáneas superficiales ya que la mayoría de los fotosensibilizadores comercializados actualmente absorben la radiación óptica en la región espectral visible por debajo de 700 nm, donde la penetración de la luz en la piel se limita a unos pocos milímetros. Otro aspecto que puede limitar la respuesta al tratamiento, es una acumulación insuficiente del fotosensibilizador en el tejido tumoral, en gran parte debido a la influencia que tiene la capa córnea de la epidermis en el proceso de difusión del precursor hacia las capas más profundas de la piel, [2-3]. Igualmente el carácter hidrofóbico de la mayoría de los fotosensibilizadores que se agregan fácilmente en un medio fisiológico, dificulta la formulación farmacéutica para su administración. De este modo el uso actual de la TFD para tratar ciertos tipos de patologías cutáneas presenta varias limitaciones vinculadas en términos generales a los componentes que intervienen en las reacciones fotodinámicas, como son las relacionadas con el proceso de distribución del fotosensibilizador en el tejido diana, la radiación óptica o las reacciones fotoquímicas que tienen lugar durante el proceso [4].

La Bio-nanotecnología podría ayudar a superar en un futuro gran parte de las limitaciones actuales de la TFD mediante la administración de nanopartículas (NPs) con diferente funcionalidad dentro del contexto del proceso fotodinámico. En términos generales pueden actuar como transductores de energía, ser capaces de generar agentes citotóxicos por sí mismas o bien servir como portadoras del fotosensibilizador, [5]. En este último caso, están pensadas para jugar un papel pasivo dentro del contexto fotodinámico y únicamente transportar las moléculas de fotosensibilizador, proporcionando una vía efectiva para superar la naturaleza hidrofóbica de la mayoría de los fotosensibilizadores y lograr una mayor acumulación en el tejido tumoral [1, 5]. Lo que contribuiría en definitiva a mitigar respuestas al tratamiento incompletas e incluso a evitar daños en el tejido sano.

Entre los diferentes materiales investigados, las NPs de oro son particularmente interesantes por varias razones, entre ellas su facilidad de síntesis, biocompatibilidad y la posibili-

dad de variar sus propiedades ópticas modificando su forma y tamaño. Se ha demostrado que los conjugados con NPs de oro son excelentes vehículos de entrega de fotosensibilizadores hidrofóbicos ligados a su superficie en cultivos de células tumorales [6-7]. Sin embargo la mayoría de estos estudios están centrados en la síntesis de NPs de oro para mejorar la entrega del fotosensibilizador *in vitro* por lo que factores dosimétricos con consecuencias directas en la respuesta al tratamiento como son su distribución o su efecto sobre la propagación de la radiación óptica a nivel tisular no se tienen en cuenta. En un tejido biológico la administración de NPs de oro que actúan con portadoras para los fotosensibilizadores convencionales podría afectar a la absorción óptica y como consecuencia directa a la actualmente limitada profundidad de penetración de la luz en tejido maligno. Por lo que la profundidad de penetración de la luz y en consecuencia la profundidad de tratamiento efectiva podrían verse aún más limitadas a pesar de las mejoras en la entrega del fotosensibilizador. Dejando en todo caso de actuar como un mero elemento pasivo dentro del contexto fotodinámico.

En este trabajo se estudia el efecto de las NPs de oro sobre la distribución de la radiación óptica con fines dosimétricos, cuando actúan como portadoras de un fotosensibilizador de la familia de las porfirinas ampliamente empleado en dermatooncología. Para ello se emplea un modelo predictivo que permite analizar los cambios inducidos por la administración de NPs esféricas portadoras del fotosensibilizador sobre la distribución de la radiación óptica en el tejido maligno. A partir de la distribución óptica se estima la profundidad del tratamiento fotodinámico en un carcinoma basocelular nodular considerando este tipo de fotosensibilizador cuando se entrega tanto de forma convencional como mediante diferentes NPs de oro. Lo que permite analizar su efecto sobre el resultado del tratamiento de la TFD convencional. En la sección 2 se presenta los fundamentos del modelo empleado para obtener la profundidad del tratamiento fotodinámico cuando se emplean NPs de oro portadoras de fotosensibilizador. La aplicación del modelo sobre un carcinoma

basocelular nodular considerando diferentes tipos de NPs y concentraciones se presenta en la sección 3 junto a los resultados obtenidos. Finalmente en la sección 4 se recogen las principales conclusiones del trabajo.

## 2.- Fundamentos del modelo

En medios turbios, como es el caso de la mayoría de los tejidos biológicos, cuando el scattering es dominante, la teoría del transporte de la radiación permite describir el transporte de energía a través del medio mediante la ecuación del transporte de la radiación [8]. En el estado estacionario cuando la fuente de luz ha iluminado la muestra de tejido durante el tiempo suficiente de forma que la radiación óptica ha alcanzado el equilibrio, y en una región libre de fuentes, la ecuación del transporte de la radiación puede expresarse como en (1). Donde la luz se propaga desde la dirección  $\hat{s}'$  a la dirección  $\hat{s}$ ,  $I(r, \hat{s})$  es la intensidad específica en  $\text{W/m}^2\text{sr}$ ,  $\mu_a$  es el coeficiente de absorción,  $\mu_s$  es el coeficiente de scattering,  $p(\hat{s}, \hat{s}')$  es la función de fase de scattering que contiene las probabilidades de que la luz sea esparcida en diferentes direcciones y  $\Omega$  es el ángulo sólido.

$$\hat{s} \cdot \nabla I(r, \hat{s}) = -(\mu_a + \mu_s)I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(r, \hat{s}') d\Omega' \quad (1)$$

En el caso particular de los tejidos biológicos la resolución de la ecuación RTT se suele realizar mediante el método de Monte Carlo ya que proporciona una buena aproximación para resolver problemas relacionados con el transporte de la luz en los tejidos. Entre las diferentes aproximaciones de este método se utiliza la aproximación multicapa de Wang y Jacques [9], que permite definir diferentes capas de tejidos con sus bordes perpendiculares al haz óptico. Lo que es de gran utilidad en tejidos estratificados como es el caso de la piel. En cuyo caso es preciso conocer los parámetros ópticos de los diferentes tejidos así como su grosor. Sin embargo, cuando la luz se propaga a través de un medio biológico que alberga NPs, no sólo es absorbida y esparcida por el tejido, sino también por las propias NPs [10]. Por este motivo, el cálculo de la distribución óptica en el tejido tratado,

debe tener en cuenta las propiedades ópticas de las NPs.

El esparcimiento de la luz debido a estructuras esféricas como las NPs consideradas en este trabajo, se puede calcular mediante la teoría de Mie teniendo en cuenta su radio  $r$  y el índice de refracción del oro [11, 12]. Así se pueden calcular las propiedades de scattering y absorción de las NPs de oro como se expresa en (2) a partir de los factores de eficiencia calculados mediante la teoría de Mie. Representando el subíndice  $i$  la absorción o el scattering y  $N$  la concentración de NPs.

$$\mu_i = \pi r^2 Q_i N \quad (2)$$

## 3.- Aplicación del modelo y resultados

Las propiedades ópticas de las NPs de oro fueron calculadas mediante la teoría de Mie a la longitud de onda adecuada para excitar un fotosensibilizador de la familia de las porfirinas cuyas bandas de absorción útiles para TFD caen aproximadamente en el rango espectral comprendido entre 600 y 650 nm [5]. Se consideraron NPs esféricas de radios 40 nm y 80 nm, así como dos concentraciones ( $2 \cdot 10^9$  y  $4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ ) distribuidas homogéneamente en un carcinoma basocelular nodular de 6 mm de profundidad. Las propiedades ópticas de este tipo de tejido tumoral fueron obtenidas a la longitud de onda de interés para excitar las moléculas del fotosensibilizador y desencadenar las reacciones fotoquímicas a partir de las cuales se produce el agente citotóxico encargado de la destrucción del tejido durante la TFD [13].

La distribución de la radiación óptica en el carcinoma sin emplear NPs y con diferentes NPs para entregar las porfirinas, se obtuvieron mediante el método de Monte Carlo, teniendo en cuenta las propiedades ópticas adecuadas para excitar este tipo de fotosensibilizadores. Se consideró un haz óptico cilíndrico de 0.25 cm de radio perpendicular al carcinoma y una irradiancia de  $200 \text{ mW/cm}^2$ . En la Figura 1 se representa la absorción óptica en el tejido cuando se expone a la TFD con el fotosensibilizador convencional (Fig. 1 a) y empleando NPs de oro (80 nm,  $4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ ) como medio de entrega (Fig. 1b). Tal y como se puede observar, la presencia de NPs

de oro embebidas en el tejido provoca un incremento de la absorción en las regiones más superficiales del tumor y por lo tanto una reducción de la profundidad de penetración óptica en el tejido. En todos los casos estudiados la entrega de moléculas de porfirina mediante NPs de oro produjo este mismo efecto, aunque el grado de reducción de la profundidad de penetración óptica depende tanto del tamaño de las NPs como de su concentración en el tumor, llegando a ser significativo en algunos casos. En la Tabla 1 se resume la profundidad efectiva de penetración de la luz en el tejido tumoral, dada por  $\delta = 1/\mu_{\text{eff}}$  donde  $\mu_{\text{eff}} = \sqrt{3\mu_a\mu_s}$ , cuando se aplica radiación óptica en el rango espectral adecuado para excitar el fotosensibilizador, tanto administrado convencionalmente como mediante NPs.

Teniendo en cuenta estos resultados bajo diferentes configuraciones de entrega del fotosensibilizador, es posible obtener la profundidad del tratamiento fotodinámico  $d_{\text{TFD}}$ . Esta última tiene un valor estimado de  $d_{\text{TFD}} : 3 - 5\delta$  para la mayoría de los fotosensibilizadores empleados en la práctica clínica [14]. Aunque otras fuentes imponen un límite más restrictivo para que se produzca el efecto biológico de la TFD (necrosis, apoptosis, colapso vascular) y sugieren que ocurre hasta a aproximadamente el doble de la profundidad de penetración de la luz [8]. Empleando este último criterio, se obtuvo la profundidad del tratamiento fotodinámico que se recoge en la Tabla 2 para los casos estudiados.

Como se puede observar, la inclusión de NPs de oro como medio de entrega para las moléculas de fotosensibilizador produce una disminución de la profundidad efectiva del tratamiento fotodinámico como consecuencia una mayor absorción óptica que reduce la penetración de la radiación óptica en el carcinoma. Por lo que la efectividad de la TFD con este tipo de NPs debe ser analizada teniendo en cuenta que pueden empeorar la actualmente limitada penetración de la luz en el medio biológico empleando fotosensibilizadores convencionales.

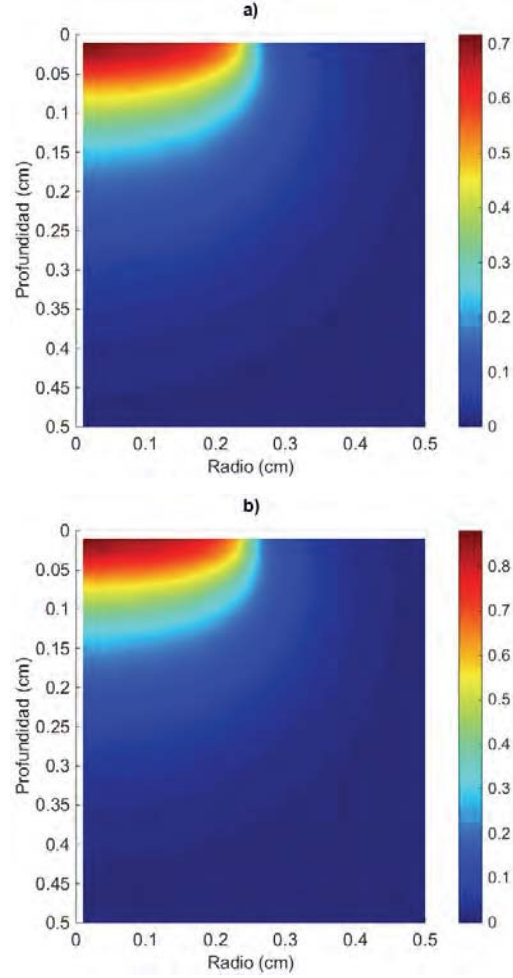


Fig. 1: Absorción óptica ( $\text{W}/\text{cm}^3$ ) en el tumor cuando se somete a TFD empleando a) un fotosensibilizador convencional de la familia de las porfirinas y b) cuando se entrega ese fotosensibilizador con NPs de oro (80 nm,  $4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ ).

Igualmente los resultados ponen de manifiesto la importancia del tamaño de las NPs administradas, así como de su concentración en el medio. De modo que tanto un aumento del radio como de la cantidad administrada supone una disminución de la profundidad de los efectos del tratamiento. Siendo esta última especialmente crítica cuando se trata de eliminar tumores que se extienden hasta una determinada profundidad. Por lo que el uso de modelos predictivos [15] como el empleado en este trabajo podría ser de gran utilidad para descartar la administración de este tipo de NPs cuando se planifica el tratamiento mediante TFD sobre carcinomas con una determinada estructura morfológica [16]. Así el uso de las NPs estudiadas supondría una



reducción de la profundidad del tratamiento fotodinámico de entre el 0.54 y el 17.13 % respecto al uso del fotosensibilizador convencional tal y como se recoge en la Tabla 3.

$\lambda$ [nm]	600	650
FS convencional	0.0939	0.1290
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=40 \text{ nm}$	0.0933	0.1283
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	0.0851	0.1169
$N=4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	0.0779	0.1069

Tabla 1. Profundidad de penetración de la radiación óptica [cm] en el rango espectral de las bandas de absorción de los fotosensibilizadores de la familia de las porfirinas entregadas de forma convencional y mediante NPs de oro. (FS: fotosensibilizador)

$\lambda$ [nm]	600	650
FS convencional	0.1878	0.2580
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=40 \text{ nm}$	0.1866	0.2566
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	0.1702	0.2338
$N=4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	0.1558	0.2138

Tabla 2. Profundidad de penetración (cm) de los efectos del tratamiento fotodinámico en el rango espectral de excitación de los fotosensibilizadores de la familia de las porfirinas entregadas de forma convencional y mediante NPs de oro.

Estos resultados no sólo muestran la gran importancia del tamaño de la NP y de la dosis administrada, sino también la necesidad de seleccionar su tamaño atendiendo al tipo de fotosensibilizador empleado. Ya que si su rango de excitación espectral coincide con la banda de resonancia plasmónica de las NPs, dicha reducción será aún más significativa. Siendo todos estos aspectos a tener en cuenta para evitar una posible persistencia tumoral tras el tratamiento fotodinámico. A la vista de los resultados obtenidos cabría la posibilidad de cuestionarse el papel pasivo que se atribuye a las NPs portadoras de fotosensibilizador dentro del contexto del tratamiento fotodinámico.

Tipo de NP y concentración	Empeoramiento (%)
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=40 \text{ nm}$	0.54-0.63
$N=2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	9.37
$N=4 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-3}$ $r=80 \text{ nm}$	17.04-17.13

Tabla 3. Máximo empeoramiento (%) de la profundidad del tratamiento fotodinámico que supone la administración de NPs de oro como medio de entrega para un fotosensibilizador de la familia de las porfirinas respecto a su uso convencional.

#### 4.- Conclusión

En este trabajo se ha empleado un modelo predictivo para estudiar el efecto de las NPs de oro portadoras de un fotosensibilizador de la familia de las porfirinas sobre la profundidad de la TFD aplicada en un carcinoma basocelular nodular. Los resultados destacan la importancia de elegir adecuadamente tanto el tamaño como la concentración de NPs administradas durante la planificación del tratamiento para no limitar la profundidad de los efectos terapéuticos. Para lo cual el uso de modelos predictivos presenta una gran utilidad a la hora de descartar el uso de ciertas NPs como portadoras de determinados fotosensibilizadores. Puesto que a pesar de favorecer una mejor acumulación del agente fotoactivo, limitan a priori el efecto terapéutico deseado sobre aquellos carcinomas de una cierta profundidad.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i “Estudio de las propiedades ópticas y magnéticas del ZnO impurificado con metales de transición y sus aplicaciones en biomedicina” (MAT2012-38664-C02-01), y por la Fundación San Cándido.

#### Referencias

- [1] D. K. CHATTERJEE, L. S. FONG, Y. ZHANG, “Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 1627-1637, 2008.
- [2] F. SCARMATO, R. FONSECA, J. A. THOMAZINE, A. C. TEDESCO, N. LANGE, M. V. LOPES, “In Vitro

- Metabolism of 5-ALA Esters Derivatives in Hairless Mice Skin Homogenate and in Vivo PpIX Accumulation Studies", *Pharmaceutical Research*, 21, 2247-2252, 2004.
- [3] H. S. GILL, S. N. ANDREWS, S. K. SAKTHIVEL, A. FEDANOV, I. R. WILLIAMS, D. A. GARBER, F. H. PRIDDY, S. YELLIN, M. B. FEINBERG, S. I. STAPRANS, M. R. PRAUSNITZ, "Selective removal of stratum corneum by microdermabrasion to increase skin permeability", *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 38, 95-103, 2009.
- [4] R. R. ALLISON, H. C. MOTA, V. S. BAGNATO, C. H. SIBATA, "Bio-nanotechnology and photodynamic therapy-State of the art review", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 5, 19-28, 2008.
- [5] M. R. HAMBLIN, P. MRÓZ, "Advances in Photodynamic Therapy: Basic, Translational and Clinical" (Engineering in medicine & Biology, 2008).
- [6] M. E. WIEDER, D. C. HONE, M. J. COOK, M. M. HANDSLEY, J. GAVRILOVIC, D. A. RUSSELL, "Intracellular photodynamic therapy with photosensitizer-nanoparticle conjugates: cancer therapy using a 'Trojan horse'", *Photochem. Photobiol. Sci.*, 5, 727-734, 2006.
- [7] M. K. K. OO, X. YANG, H. DU, H. WANG, "5-aminolevulinic acid-conjugated gold nanoparticles for photodynamic therapy of cancer", *Nanomedicine*, 3, 6, 777-786, 2008.
- [8] T. VO-DINH, "Biomedical Photonics Handbook" (Boca Raton: CRC Press, 2003).
- [9] S. L. JACQUES, "Monte Carlo Simulations of Fluorescence in Turbid Media, Handbook of Biomedical Fluorescence", (B. W. Rogue and M. A. Mycek, eds. CRC Press, 2003).
- [10] X. XU, A. MEADE, Y. BAYAZITOGU, "Numerical investigation of nanoparticle-assisted laser-induced interstitial thermotherapy toward tumor and cancer treatments", *Lasers Med Sci.* 26, 213-222, 2011.
- [11] C. F. BOHREN, D. R. HUFFMAN, "Absorption and Scattering of Light by Small Particles" (John Wiley, 1983).
- [12] C. MÄTZLER, "MATLAB Functions for Mie Scattering and Absorption" (Universitas Bernensis, 2002).
- [13] E. SALOMATINA, B. JIANG, J. NOVAK, A. N. YAROSLAVSKY, "Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range", *J. Biomed. Opt.*, 11, 0640261-640269, 2006.
- [14] B. C. WILSON, M. S. PATTERSON, "The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy", *Phys. Med. Biol.*, 53, R61-R109, 2008.
- [15] I. SALAS-GARCÍA, F. FANJUL-VÉLEZ, N. ORTEGA-QUIJANO, A. LAVÍN-CASTANEDO, P. MINGO-ORTEGA, M. LÓPEZ-ESCOBAR, J. L. ARCE-DIEGO, "Effect of gold nanoparticles in the local heating of skin tumors induced by phototherapy", *Proc. SPIE*, 8092, 8092041-7, 2011.
- [16] I. SALAS-GARCÍA, F. FANJUL-VÉLEZ, J. L. ARCE-DIEGO, "Influence of the human skin tumor type in Photodynamic Therapy analysed by a predictive model", *International Journal of Photoenergy*, 2012, 1-9, 2012.